

ZUR WIRKUNG VON TROXERUTIN
UND DIHYDROERGOTAMIN
AUF DIE DURCH ETACRYNSÄURE
GESCHÄDIGTEN ISOLIERTEN
ORGANE VON RATTE
UND MEERSCHWEINCHEN

Peter Borovec

Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie
der Universität München
Direktor: Prof. Dr. Wolfgang Forth

ZUR WIRKUNG VON TROXERUTIN UND
DIHYDROERGOTAMIN AUF DIE DURCH ETACRYNSÄURE
GESCHÄDIGTEN ISOLIERTEN ORGANE VON
RATTE UND MEERSCHWEINCHEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der Zahnheilkunde
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Peter Borovec

aus

München

1986

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Wolfgang Felix

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Wolfgang Forth

Dekan: Prof. Dr. Wolfgang Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 8. April 1986

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

1.	EINLEITUNG	1
2.	METHODIK	5
2.1	Versuchstiere und Präparation	5
2.2	Apparatur	7
2.3	Nährlösung	9
2.4	Versuchsbedingungen	10
2.4.1	Kontrollversuche	10
2.4.2	Verumversuche	12
2.5	Versuchsablauf	12
2.5.1	Kontrollversuche	12
2.5.2	Verumversuche	13
2.6	Auswertung	14
2.7	Verwendete Pharmaka	17
2.7.1	Kontraktionsauslösende Substanzen	17
2.7.2	Schädigende Substanz	17
2.7.3	Protektive Substanzen	18
3.	DARSTELLUNG DER ERGEBNISSE	19
3.1	Vergleich der an verschiedenen Organen der Ratte erhaltenen Ergebnisse (Organvergleich)	20
3.1.1	Kontrollversuche	20
3.1.2	Ergebnisse der Versuche am Ileum der Ratte	23
3.1.3	Ergebnisse der Versuche am Colon der Ratte	31
3.1.4	Ergebnisse der Versuche an der Pfortader der Ratte	35
3.1.5	Zusammenfassung der Versuche am Ileum und Colon sowie der Pfortader der Ratte (tabellarisch)	40

3.2 Vergleich der Ergebnisse am Ileum von Ratte und Meerschweinchen (Tiervergleich)	43
--	----

4. DISKUSSION	46
---------------	----

5. ZUSAMMENFASSUNG	52
--------------------	----

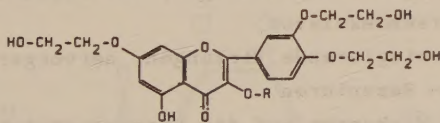
6. LITERATURVERZEICHNIS	54
-------------------------	----

1. EINLEITUNG

In der Therapie von chronischen venösen Erkrankungen bewähren sich seit langem die O-(β -Hydroxyäthyl)-Rutose (HR) aus der Gruppe der Flavonoide. Ihre gefäßstabilisierende und protektiv antiödematöse Wirkung gilt heute als gesichert (Felix, 1978; Biesendorfer, 1980; Hammersen, 1978). Da ein Bestandteil der ödemprotektiven Wirkung der O-(β -Hydroxyäthyl)-Rutose (HR) eine allgemeine Schutzwirkung ist, eröffnet sich die Möglichkeit, diesen Schutzeffekt außer an Gefäßen (z. B. Pfortader) auch an glattemuskulären Organen (z. B. Ileum) zu testen.

Als besonders wirksam erwies sich das Trihydroxyäthyl-Rutoseid (Troxerutin®), das durch Hydroxyäthylisierung von drei der vier phenolischen Gruppen des Rutins erhalten wird und ähnlich wie das Gemisch von mono-, di-, tri- und tetra- hydroxyäthylierten Rutosiden (HR) wirkt.

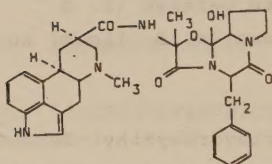
7,3',4'-Trihydroxyäthyl-Rutoseid (Troxerutin®)



R = C₁₂H₂₁O₆

= Rhamnosidoglucose

Eine weitere Substanz, die sich bei der Therapie von Venenerkrankungen aufgrund ihres venenkonstringierenden Effektes bewährt hat, ist das Dihydroergotamin, das durch Hydrierung des Lysergsäurerestes von Ergotamin, einem Mutterkornalkaloid, entsteht.



Dihydroergotamin (DHE)

Die pharmakologischen Wirkungen der Sekale-Alkaloide, zu denen auch das DHE zählt, sind vielfältig (Berde und Schild, 1978), wobei sich an einigen glattmuskulären Organen folgende Wirkungen zeigen:

- a: direkte konstringierende Wirkungen, vor allem auf die erschlaffte Gefäßmuskulatur
- b: indirekte konstringierende Wirkungen, hervorgerufen durch Blockade der α - Rezeptoren
- c: kontrahierende Wirkungen auf die Uterusmuskulatur

Zu den Organen mit glatter Muskulatur, die von diesen Alkaloiden kaum beeinflusst werden, zählen z. B. Darm und Bronchien.

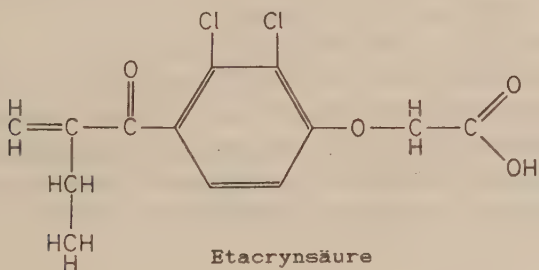
Weiterhin wurden Untersuchungen durchgeführt, um Aufschluß über die Wirkung von DHE und Troxerutin bei kombinierter Anwendung zu erhalten.

So ergaben Versuche an der hinteren Extremität der Katze (Felix, unveröffentlichte Versuche), daß DHE die ödemprotektive Wirkung von Troxerutin beeinträchtigt.

An der glatten Muskulatur vom durch Polidocanol geschädigten Meerschweinchenileum zeigte sich, daß unter dem Einfluß von DHE die protektive Wirkung des Troxerutins verstärkt wird (Bingemann, 1982).

In vorliegender Arbeit sollte geprüft werden, ob sich durch Vorbehandlung verschiedener Organe mit Troxerutin bzw. Troxerutin in Kombination mit DHE gegenüber einer Schädigung durch das Pharmakon Etacrynsäure ebenfalls ein Schutzeffekt erzielen läßt.

Etacrynsäure gehört zur Gruppe der Diuretika und zeichnet sich durch besondere Wirkungsstärke aus.



Bei der therapeutischen intravenösen Anwendung von Etacrynsäure treten Venenwandreizungen auf, die zu der Vermutung führten, daß Etacrynsäure die Kontraktionsfähigkeit von Gefäßen beeinflusst. Backhaus (1) fand eine irreversible Schädigung der Pfortadern von Ratten, was sich in einem Verlust der Spontanmotorik und in einer Verminderung der durch ein Spasmogen hervorgerufenen Kontraktion zeigte.

Die Versuche der vorliegenden Arbeit wurden überwiegend am Darm von Ratte und Meerschweinchen durchgeführt, da dies ökonomischer und technisch einfacher als an Gefäßen zu bewerkstelligen war. Bei einem Teil der an den Ratten durchgeführten Versuche wurden auch die Pfortadern mit einbezogen. Isolierte funktionsfähige Segmente vom Meerschweinchenileum sowie von Ileum, Colon und Pfortader der Ratte wurden dazu in Organbädern unter verschiedenen Bedingungen untersucht.

Nach Verabreichung der hypothetisch schützenden Substanz Troxerutin bzw. nach gemeinsamer Verabreichung von Troxerutin und DHE erfolgte die Schädigung durch Etacrynsäure. Die Kontraktilität der so vorbehandelten Muskelpräparate wurde dann verglichen mit der von Präparaten, die lediglich mit Etacrynsäure geschädigt - also nicht geschützt - waren. Die Prüfung der Kontraktionsfähigkeit erfolgte mittels Acetylcholin (Darm) und Noradrenalin (Pfortader).

Bei der Darstellung der erzielten Ergebnisse werden die Versuche an Segmenten von Ileum, Colon und Pfortader der Ratte unter dem Aspekt Organvergleich und die Ergebnisse an Ileumabschnitten von Ratte und Meerschweinchen unter dem Aspekt Tiervergleich zusammengefaßt.

2. METHODIK

2.1 Versuchstiere und Präparation

Als Versuchstiere dienten männliche Meerschweinchen mit einem Gewicht von ca. 300 - 500 g sowie ca. 350 - 550 g schwere männliche Ratten, die 24 Stunden vor der Versuchsdurchführung keine feste Nahrung mehr erhielten.

Die für Verumversuche bestimmten Tiere erhielten 1 Stunde vor dem Exitus Troxerutin bzw. Troxerutin und DHE intravenös (i.v.) eingespritzt. Nach dem Exitus wurden die Tiere sofort laparotomiert. Die benötigten Organe wurden unter möglichst antiseptischen Kautelen und häufiger Berieselung mit einer Nährlösung schonend abpräpariert. Dies erwies sich vor allem bei der Pfortader als sehr wichtig, da Gefäße gegenüber Milieuänderungen äußerst empfindlich reagieren.

Präparation des Darmes

Ileum beim Meerschweinchen sowie Ileum und Colon bei der Ratte wurden vorsichtig vom Mesenterium abpräpariert und sofort in die bereitstehende angewärmte Nährlösung (s. Kapitel 2.3) eingetaucht.

Vom proximalen und distalen Ende der Versuchsorgane wurden jeweils ca. 10 cm abgetrennt und verworfen. Mittels Nährlösung wurde der eventuell noch vorhandene Darminhalt vorsichtig herausgespült. Vom distalen Ende her wurden ca. 20 - 30 mm lange Segmente abgeschnitten. Die Enden dieser Darmabschnitte wurden jeweils über kurze Plastikröhrchen mit Drahtösen gestülpt und mit Nähseide daran befestigt. Diese Plastik-

hohlzylinder entsprachen im Durchmesser in etwa dem Lumen eines gefüllten Darmes. Die Nährlösung und die darin enthaltenen Substanzen konnten somit sowohl von außen als auch von innen an das Präparat gelangen. Mit den Ösen der Plastikzylinder wurden die Darmsegmente in die Versuchsanordnung eingehängt. Reaktionslose Darmsegmente konnten durch neue, vom restlichen Darmabschnitt gewonnenen Abschnitte ersetzt werden.

Präparation der Pfortader

Bevor bei den laparotomierten Ratten die Pfortader entnommen wurde, mußte durch diese ein Plastikstäbchen bis zur Leber durchgeschoben werden. Danach wurde die Pfortader mit Hilfe einer hierfür geeigneten Vorrichtung spiralförmig geschnitten, um einen ca. 20 - 30 mm langen Streifen zu gewinnen, an dessen Enden Nähseideschlingen zum Einhängen in die Versuchsanordnung befestigt wurden. Ein schnelles Vorgehen unter ständiger Berieselung mit der Nährlösung (s. Kapitel 2.3) war hierfür eine unabdingbare Voraussetzung, da die Gefäße ansonsten ihre Spontanaktivität und Kontraktionsfähigkeit einbüßten.

2.2 Apparatur

Die Messungen wurden an einer von Felix entwickelten Apparatur durchgeführt, die bereits von Backhaus, Bingemann, Eichler, Gronenberg, Hebeisen, Obermayr et al. verwendet und beschrieben wurde.

Mit Hilfe eines elektromechanischen Wandler wurden isotone Längenänderungen eines isolierten Organs fortlaufend von einem Schreiber registriert. Die Apparatur ist schematisch in Abbildung (1) dargestellt.

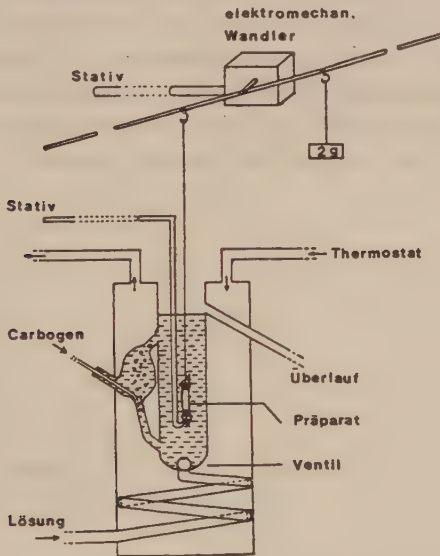


Abb. (1): Schematische Darstellung der Versuchsanapparatur zur Messung isotoner Kontraktionen nach Magnus Levi und die elektromechanische Umwandlung nach Felix-Remin-Hällfritsch (Abbildung nach Schuster)

Zum Fixieren des Präparates im Organbad waren zwei Haken vorgesehen. Ein Ende des Präparates wurde starr mit der Apparatur verbunden, das andere mit einem widerstandsfrei gelagerten Hebel, der auf der anderen Seite seiner Achse das Präparat mit einem Gewicht vorbelastete (bei Ileum und Colon 2 g, bei der Pfortader 0,5 g).

Längenänderungen des Präparates führten zu einer Auslenkung des Hebels. Blenden auf beiden Seiten der Hebelachse veränderten beim Auslenken des Hebels den Widerstand beleuchteter Photowiderstände einer Gleichstrommeßbrücke. Diese war so gewählt, daß eine Längenänderung des Präparates eine ihr proportionale Änderung der Gleichspannung bewirkte, die von einem Schreiber fortlaufend registriert wurde.

2.3 Nährlösung

Die Versuche am Ileum und Colon bzw. an der Pfortader wurden mit unterschiedlichen Standardlösungen durchgeführt.

Zusammensetzung der Nährlösung	Pfortader (mMol/l)	Ileum + Colon (mMol/l)
NaCl	122	118.3
KCl	4.73	4.75
CaCl ₂ · 2 H ₂ O	3.29	2.6
MgCl ₂ · 6 H ₂ O	1.19	-
NaHCO ₃	15.5	12.5
KH ₂ PO ₄	1.19	1.19
MgSO ₄	-	1.2
Glukose · H ₂ O	11.5	11.1
Pyruvat	1	1

Tab. (1): Zusammensetzung der Nährlösung für Ileum und Colon
bzw. für die Pfortader

Die im Organbad verwendete Nährlösung war auf 37 °C temperiert und wurde ständig mit Carbogen (95 % O₂, 5 % CO₂) begast. Der pH-Wert der Lösungen betrug ca. 7,3.

2.4 Versuchsbedingungen

Abhängig von der Anzahl verfügbarer Apparaturen konnten gleichzeitig 10 bzw. 14 Versuche an einem Tier durchgeführt werden.

Bei Versuchen am Ileum des Meerschweinchens wurden von einem Tier jeweils so viele Präparate gewonnen wie Organbäder zur Verfügung standen.

Bei Versuchen an Organen der Ratte wurde pro Tier ein Pfortaderpräparat gewonnen; die restlichen Organbäder wurden mit Präparaten vom Ileum und Colon belegt.

Da mindestens eine der protektiven Substanzen intravenös verabreicht wurde, mußten Kontroll- und Verumversuche an verschiedenen Tieren durchgeführt werden, da für Kontrollversuche Präparate benötigt wurden, die nicht mit einer protektiven Substanz vorbehandelt waren.

Aus dem gleichen Grund waren Leerversuche zur Überprüfung der Funktionsfähigkeit eines für Verumversuche bestimmten Organs nicht möglich.

2.4.1 Kontrollversuche

Bei Kontrollversuchen wurden die Präparate nach dem Fixieren im Organbad und nach Ermittlung der Ausgangskontraktion mit Etacrynsäure geschädigt, ohne vorher mit einer protektiven Substanz vorbehandelt worden zu sein. Da die untersuchten Organe unterschiedlich stark auf die Schädigung durch Etacrynsäure reagierten, wurde in Vorversuchen die günstigste Einwirkungsdauer und die Konzentration der Etacrynsäure in Abhängigkeit vom Organ ermittelt (s. Tabelle (2)).

Tier	Organ	Konz. Etacrynsäure (%)	Einwirkungszeit (min)
Meer- schwein- chen	Ileum	0.005	10
Ratte	Ileum	0.005	11
Ratte	Colon	0.005	12
Ratte	Pfort- ader	0.01	10

Tab. (2): Konzentration und Einwirkungszeit der
Etacrynsäure in Abhängigkeit vom Organ

2.4.2 Verumversuche

Die Präparate wurden vor Schädigung durch Etacrynsäure mit der protektiven Substanz bzw. den protektiven Substanzen behandelt. Troxerutin wurde ausschließlich intravenös vor dem Exitus der Tiere verabreicht. DHE wurde teils gelöst ins Organbad zugegeben, teils neben Troxerutin intravenös verabreicht. Es wurden Versuche ausschließlich mit Troxerutin und Versuche mit Troxerutin und DHE in Kombination durchgeführt.

2.5 Versuchsablauf

2.5.1 Kontrollversuche

Nach dem Exitus der unbehandelten Versuchstiere wurden die Organe wie in Kapitel 2.2 beschrieben präpariert und im Organbad fixiert. Nach einer Gewöhnungszeit von ca. 45 Minuten hatten sich die Präparate an das neue Milieu gewöhnt. Das wurde durch Kontraktionen, ausgelöst durch Noradrenalin (Pfortader) bzw. Acetylcholin (Ileum, Colon) überprüft. Nach jeder Kontraktion wurde sorgfältig mit der dem Organ entsprechenden Nährlösung (s. Kapitel 2.3) 5 Minuten lang gespült. Folgten zwei annähernd gleich große Kontraktionen aufeinander, hatten sich die Organe an das neue Milieu gewöhnt und die schädigende Substanz Etacrynsäure wurde in der für jedes Organ ermittelten Konzentration (s. Tabelle (2)) ins Organbad zugegeben. Nach der für jedes Organ ermittelten Einwirkungsdauer wurde wieder 5 Minuten lang gespült. 5, 35 und 65 Minuten nach Beendigung der Schädigung wurden durch Acetylcholin bzw. Noradrenalin Kontraktionen ausgelöst, dazwischen wurde jedesmal sorgfältig

nachgespült. Der Versuchsablauf wurde kontinuierlich von einem Schreiber aufgezeichnet. Die Auswertung der so erhaltenen Kurven wird in Kapitel 2.6 besprochen.

2.5.2 Verumversuche

Der Versuchsablauf war abhängig vom Zeitpunkt der Applikation der protektiven Substanzen.

Bei intravenöser Applikation wurden die Versuchstiere 60 Minuten vor dem Exitus mit der protektiven Substanz bzw. den protektiven Substanzen behandelt.

Nach dem Exitus der Tiere richtete sich der Versuchsablauf nach dem in Kapitel 2.5.1 beschriebenen Schema.

Wurde bei der Behandlung mit zwei protektiven Substanzen nur eine Substanz intravenös vor dem Exitus der Tiere verabreicht - es handelte sich dann stets um Troxerutin -, wurde das in Kapitel 2.5.1 beschriebene Schema in soweit abgeändert, daß zusätzlich vor der Schädigung durch Etacrynsäure die zweite protektive Substanz - stets DHE - ins Organbad zugegeben wurde. Erst danach erfolgte die Schädigung durch Etacrynsäure, und zwar ohne vorheriges Ausspülen des DHE, das somit immer insgesamt 20 Minuten auf das Präparat einwirken konnte. Der weitere Versuchsablauf richtete sich dann wieder nach dem Schema wie es in Kapitel 2.5.1 beschrieben ist.

2.6 Auswertung

Aus den fortlaufend registrierten Kurven wurden die Längenänderungen des Präparates während der durch Noradrenalin bzw. Acetylcholin ausgelösten Kontraktionen bestimmt. Abbildung (2) gibt einen schematisierten Kurvenverlauf wieder und verdeutlicht die gemessenen Werte.

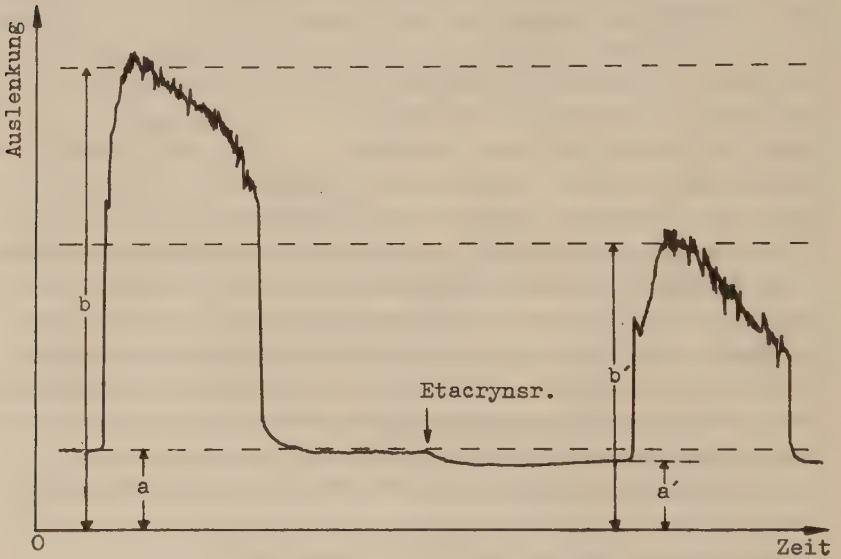


Abb. (2): Auswertung einer Originalkurve
Dargestellt sind Ausgangskontraktion und
erste Kontraktion nach Schädigung

Es wurde jeweils die dem Ruhewert (a) und der Kontraktionsphase (b) entsprechende Auslenkung relativ zum Nullpunkt des Papiers (0) ausgemessen. Die Differenz dieser beiden Werte (b - a) entsprach der maximalen Längenänderung eines Präparates während einer Kontraktion.

Als Maß für die Kontraktion wurde die Auslenkung aus dem Ausgangsruhwert (b - a) vor Schädigung durch Etacrynsäure als repräsentative Ausgangskontraktion gleich 100 % gesetzt.

Alle nach der Schädigung durch Etacrynsäure ausgelösten Kontraktionen (b' - a') wurden in Prozent dieser repräsentativen Ausgangskontraktion (b - a) angegeben.

Diese Auswertung wurde mit Hilfe eines Computers durchgeführt, der für identische Versuche an den gleichen Organen verschiedener Versuchstiere den Mittelwert ($\bar{x}$) bildete und den zugehörigen Standardfehler berechnete.

Die so berechneten Werte ($\bar{x}$) ergaben ein Maß für die nach der Schädigung durchschnittlich vorhandene Kontraktilität einer Stichprobe.

Mit Hilfe des Student-t-Testes für den Vergleich zweier Mittelwerte wurde außerdem überprüft, ob sich die Ergebnisse der Verumversuche signifikant von den Ergebnissen der jeweiligen Kontrollversuche unterschieden.

Es wurde nach Student mit der Prüfgröße

$$t = \frac{\bar{x}_V - \bar{x}_K}{s} \cdot \sqrt{\frac{n_V \cdot n_K}{n_V + n_K}} \quad \text{gearbeitet, mit}$$

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_V - \bar{x}_V)^2 + \sum (x_K - \bar{x}_K)^2}{n_V + n_K - 2}}$$

Mit :

$\bar{x}_v$ = durchschnittliche Kontraktilität des Verumversuches

$\bar{x}_k$ = durchschnittliche Kontraktilität des Kontrollversuches

x_v = Stichprobenwerte des Verumversuches

x_k = Stichprobenwerte des Kontrollversuches

n_v = Anzahl der Verumversuche identischer Versuchsbedingungen*

n_k = Anzahl der Kontrollversuche für ein untersuchtes Organ*

* Alle von einem Organ eines Tieres erhaltenen Kontroll- bzw. Verumversuche wurden gemittelt und als ein Versuch für den Student-t-Test gewertet.

Signifikanz lag vor, wenn t den für $n_v + n_k - 2$ Freiheitsgrade angegebenen Tabellenwert (L. Cavalli - Sforza, S. 48) überschritt oder den negativ genommenen Wert unterschritt. Die t -Werte für die durchgeführten Verumversuche sind der Tabelle (11) in Kapitel 3.1.5 zu entnehmen.

2.7 Verwendete Pharmaka

2.7.1 Kontraktionsauslösende Substanzen

Acetylcholin (1×10^{-6} M)

Präparat: Acetylcholinum ophthalmicum Dispersa
zur Vorderkammerspülung
DISPERSA BAESCHLIN GmbH
(Eine Trockenampulle enthält 100 mg
Acetylcholinchlorid)

Noradrenalin (1×10^{-6} M)

2.7.2 Schädigende Substanz

Etacrynsäure (Bei Versuchen am Ileum und Colon angewandt in
einer Konzentration von 0,005 %, bei der
Pfortader von 0,01 %)

Präparat: Hydromedin®

MSD PHARMA

(Eine Injektionsflasche Hydromedin i.v.
enthält 53,6 mg Natriumetacrynat
- entspricht 50 mg Etacrynsäure - und
0,1 mg Thiomersal als Konservierungsstoff)

2.7.3 Protektive Substanzen

Troxerutin®

Präparat: Troxerutin-Ampullen 500 mg/5 ml

MERCK

Dihydroergotamin

Präparat: Dihydroergot®

SANDOZ AG

(Ampullen zu 1 ml Injektionslösung mit 1 mg

Dihydroergotaminmethansulfonat oder

Dihydroergotaminmethansulfonat ungelöst)

3. DARSTELLUNG DER ERGEBNISSE

Für die Verum- und Kontrollversuche wurden 56 Ratten und 8 Meerschweinchen benötigt. Insgesamt wurden 242 Versuche durchgeführt (s. Tabelle (3)).

Tier	Organ	Anzahl der Versuche
Ratte	Ileum	n = 105
Ratte	Colon	n = 84
Ratte	Pfortader	n = 29
Meerschweinchen	Ileum	n = 24

Tab. (3): Anzahl der an verschiedenen Organen durchgeführten Versuche

3.1 Vergleich der an verschiedenen Organen der Ratte erhaltenen Ergebnisse (Organvergleich)

3.1.1 Kontrollversuche

In Voruntersuchungen wurde versucht, die Schädigung der untersuchten Organe durch Etacrynsäure durch Variation der Konzentration und Einwirkungszeit auf ca. 50 % festzulegen. Beim Colon der Ratte (s. Tabelle (4)) wurde dieser Schädigungsgrad (innerhalb des Standardfehlers) erreicht.

Organ	Konzentration Etacrynsäure (in %)	Einwirkungszeit (in min)	Zeit nach Schädigung		
			5 min	35 min	65 min
Colon	0,005	12	x 43,20	46,93	49,23
			SE 6,12	8,18	8,99
Ileum	0,005	11	x 72,35	69,34	70,19
			SE 8,49	6,16	5,08
Pfort- ader	0,01	10	x 89,14	81,43	79,99
			SE 10,38	12,20	11,63

Tab. (4): Vergleich der nach 5, 35 und 65 Minuten nach Beendigung der Schädigung durch Etacrynsäure noch vorhandenen Kontraktilität (in % der Ausgangskontraktilität) in den Kontrollversuchen für die untersuchten Organe der Ratte

Bei der Pfortader der Ratte konnte der gewünschte Schädigungsgrad von 50 % nicht durch Variation der oben aufgeführten Parameter erreicht werden.

Es wurde mit der in Tabelle (4) aufgeführten Konzentration und Einwirkungszeit gearbeitet, da eine längere Einwirkungszeit bzw. erhöhte Konzentration der Etacrynsäure bei diesem Organ häufig zum Ausfall der Präparate führte. Beim Ileum und Colon der Ratte fiel der Grundtonus um ca. 10 - 15 % (in % der Ausgangskontraktilität) direkt nach der Schädigung durch Etacrynsäure ab, veränderte sich im weiteren Versuchsablauf jedoch nicht mehr wesentlich (s. Tabelle (5)).

Organ	Absinken des Grundtonus' in % der Ausgangskontraktilität		
	5 min	35 min	65 min
Ileum	15 %	16 %	16 %
Colon	13 %	13 %	12 %
Pfortader	22 %	31 %	32 %

Tab. (5): Absinken des Grundtonus' 5, 35 und 65 Minuten nach Schädigung durch Etacrynsäure an den untersuchten Organen der Ratte

Das Absinken des Grundtonus' fällt mit der Schädigung durch Etacrynsäure zusammen. In % der Ausgangsruhwertes beträgt das Absinken des Ruhewertes direkt nach dem Ausspülen der schädigenden Substanz ca. 4,6 %, um dann im weiteren Versuchsablauf auf ca. 5,0 % abzusinken. Da die verwendeten Präparate durchschnittlich 30 mm lang waren, bedeutet das Absinken des Ruhetonus' um 5 % eine durchschnittliche Verlängerung der Präparate um 1,5 mm.

Die schädigende Substanz Etacrynsäure war nicht Gegenstand der vorliegenden Untersuchung, das Absinken des Grundtonus' direkt nach der Schädigung war aber so signifikant, daß es bei der Diskussion der Ergebnisse berücksichtigt werden muß.

Aus dem Vergleich der Ruhewerte direkt vor und nach der Schädigung durch Etacrynsäure geht klar hervor, daß das Absinken des Grundtonus' auf die Schädigung durch diese Substanz zurückzuführen ist. Vor der Schädigung bleibt der Grundtonus in allen Versuchen gleich oder erhöht sich nicht wesentlich.

3.1.2 Ergebnisse der Versuche am Ileum der Ratte

Am durch Etacrynsäure geschädigten Ileum der Ratte wurde die Wirkung von Troxerutin und von Troxerutin in Kombination mit DHE in den in den Tabellen (6) - (8) aufgeführten Konzentrationen getestet (s. Abbildungen (3) - (5)).

Eine mittlere Hemmung der Schädigung durch Etacrynsäure von über 20 % konnte bei Verwendung von

- Troxerutin 10 mg/kg (i.v.) und Troxerutin 50 mg/kg (i.v.)
 - Troxerutin 10 mg/kg (i.v.) in Kombination mit DHE im Organbad 10^{-6} M, 10^{-7} M und 10^{-8} M
 - Troxerutin 25 mg/kg (i.v.) in Kombination mit DHE 1 mg/kg (i.v.)
- erreicht werden.

Signifikante Schutzwirkung ergab sich bei der Verwendung von Troxerutin 10 mg/kg (i.v.) .

Eine Erhöhung der Troxerutinkonzentration auf 50 mg/kg (i.v.) konnte die Schutzwirkung nicht verstärken; im Vergleich zum Kontrollwert war die Schutzwirkung nicht signifikant.

Bei Kombination von Troxerutin 10 mg/kg (i.v.) mit verschiedenen Konzentrationen von DHE im Organbad lassen sich weder signifikante Schutzwirkungen noch ein Wirkungsoptimum in Abhängigkeit von der verwendeten Konzentration erkennen. Auffallend ist die ungewöhnlich große Streubreite der Ergebnisse.

Auch durch Kombination verschiedener Troxerutinkonzentrationen (i.v.) in Kombination mit DHE 1 mg/kg (i.v.) lassen sich weder signifikante Schutzwirkungen noch ein Wirkungsoptimum in Abhängigkeit von der verwendeten Troxerutinkonzentration erkennen.

Als einzige Konzentration erwies sich Troxerutin 10 mg/kg (i.v.) als signifikant schützend gegenüber der Schädigung durch Etacrynsäure mit einer mittleren Hemmung der Schädigung von über 20 %.

Bei den anderen Konzentrationen war die Streuung der Mittelwerte (der Standardfehler) zu breit bzw. die Anzahl der durchgeführten Versuche zu gering, um zu einer signifikanten Aussage zu führen.

Für die durchgeführten Versuche sind die t-Werte nach Student der Tabelle (11) zu entnehmen.

Konzentration Troloxerutin	Konzentration DHE	Anzahl der Versuche		Zeit nach Schädigung		
				5 min	35 min	65 min
-	-	18	$\bar{x}$	72,35	69,34	70,19
			SE	8,49	6,16	5,08
10 mg/kg i.v.	-	12	$\bar{x}$	118,16	113,20	113,20
			SE	10,65	9,36	9,36
50 mg/kg i.v.	-	10	$\bar{x}$	106,70	100,75	100,75
			SE	11,70	14,82	14,82
50 mg/kg i.v.	10 ⁻⁶ M im Bad	10	$\bar{x}$	68,06	58,46	58,46
			SE	19,89	16,93	16,93

Tab. (6): Einfluß von Troloxerutin und DHE auf die Schädigung durch Etacrynsäure (0,005 %, Einwirkungszeit 11 Minuten) Kontraktilität geprüft durch Acetylcholin (1×10^{-6} M)
Ausgangskontraktion vor Schädigung = 100 %
 $\bar{x}$ = Mittelwerte in % der Ausgangskontraktion
SE = Standardfehler
Tier: Ratte Organ: Ileum

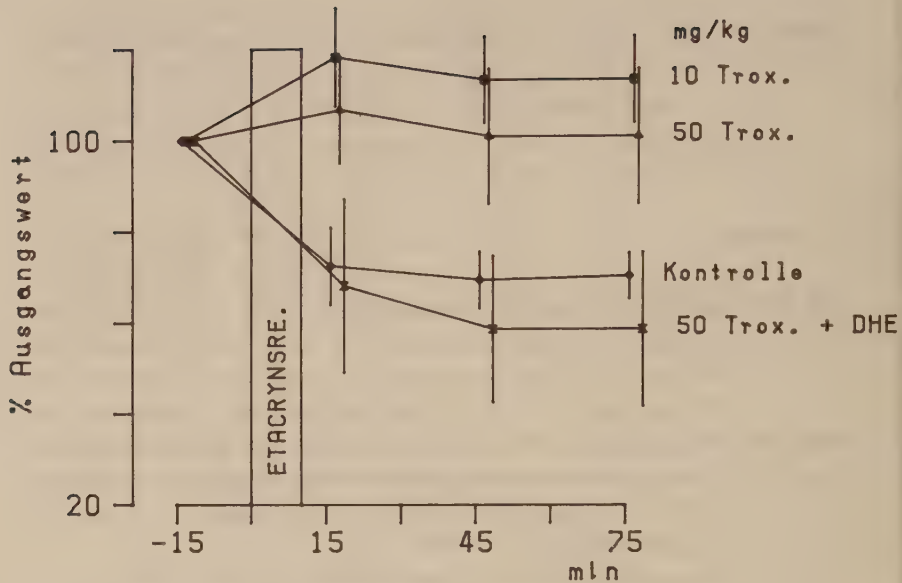


Abb. (3): Vergleich der Kontraktilität von isolierten Ileumabschnitten der Ratte nach Schädigung durch Etacrynsäure (0,005 %, 11 Minuten) bei Vorbehandlung mit Troxerutin (i.v.) bzw. Troxerutin (i.v.) und DHE 10^{-6} M im Organbad sowie ohne Vorbehandlung (= Kontrolle)
Ausgangskontraktion vor Schädigung = 100 %
Kontraktilität geprüft mit 1×10^{-6} M ACh

Konzentration Troloxerutin	Konzentration DHE	Anzahl der Versuche		Zeit nach Schädigung		
				5 min	35 min	65 min
-	-	18	$\bar{x}$	72,35	69,34	70,19
			SE	8,49	6,16	5,08
10 mg/kg	10^{-6} M	9	$\bar{x}$	91,46	91,91	91,91
i. v.	im Bad		SE	16,55	16,10	16,10
10 mg/kg	10^{-7} M	9	$\bar{x}$	116,18	104,31	104,31
i. v.	im Bad		SE	49,73	36,78	36,78
10 mg/kg	10^{-8} M	9	$\bar{x}$	90,54	96,58	96,58
i. v.	im Bad		SE	25,70	20,09	20,09

Tab. (7): Einfluß von Troloxerutin und DHE auf die Schädigung durch Etacrynsäure (0,005 %, Einwirkungszeit 11 Minuten) Kontraktilität geprüft durch Acetylcholin (1×10^{-6} M)
Ausgangskontraktion vor Schädigung = 100 %
 $\bar{x}$ = Mittelwerte in % der Ausgangskontraktion
SE = Standardfehler
Tier: Ratte Organ: Ileum

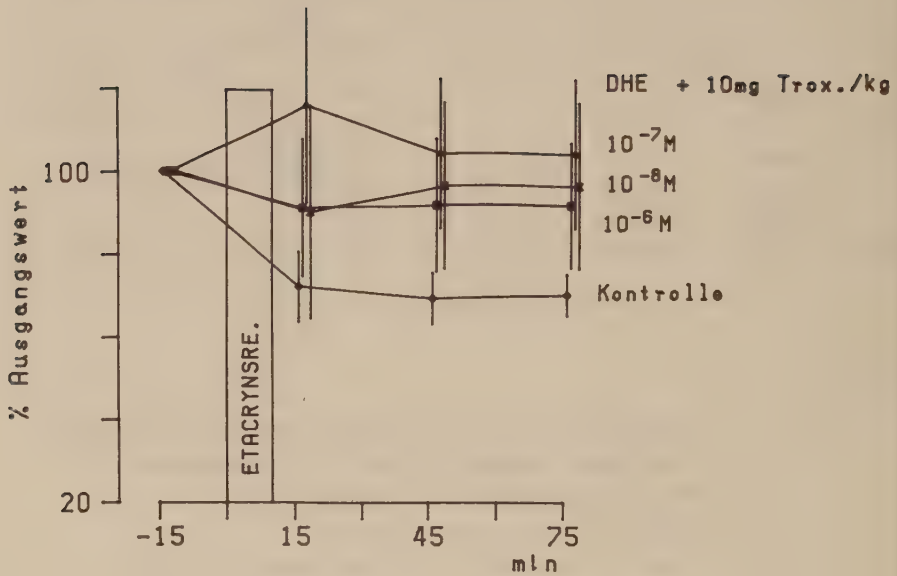


Abb. (4): Vergleich der Kontraktilität von isolierten Ileumabschnitten der Ratte nach Schädigung durch Etacrynsäure (0,005 %, 11 Minuten) bei Vorbehandlung mit Troxerutin (i.v.) und DHE im Organbad sowie ohne Vorbehandlung (= Kontrolle)

Ausgangskontraktion vor Schädigung = 100 %

Kontraktilität geprüft mit 1×10^{-6} M ACh

Konzentration Troloxerutin	Konzentration DHE	Anzahl der Versuche		Zeit nach Schädigung		
				5 min	35 min	65 min
-	-	18	$\bar{x}$	72,35	69,34	70,19
			SE	8,49	6,16	5,08
25 mg/kg	1 mg/kg	6	$\bar{x}$	96,26	94,51	94,51
i.v.	i.v.		SE	12,09	14,91	14,91
50 mg/kg	1 mg/kg	16	$\bar{x}$	78,18	77,28	77,38
i.v.	i.v.		SE	14,01	15,52	15,52
100 mg/kg	1 mg/kg	6	$\bar{x}$	81,16	73,24	73,24
i.v.	i.v.		SE	1,94	7,31	7,31

Tab. (8): Einfluß von Troloxerutin und DHE auf die Schädigung durch Etacrynsäure (0,005 %, Einwirkungszeit 11 Minuten) Kontraktilität geprüft durch Acetylcholin (1×10^{-6} M)

Ausgangskontraktion vor Schädigung = 100 %

$\bar{x}$ = Mittelwerte in % der Ausgangskontraktion

SE = Standardfehler

Tier: Ratte Organ: Ileum

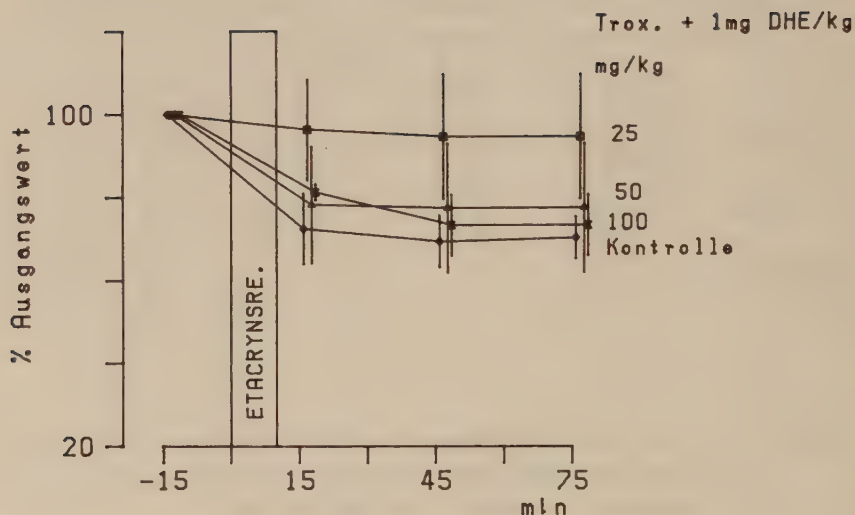


Abb. (5): Vergleich der Kontraktilität von isolierten Ileumabschnitten der Ratte nach Schädigung durch Etacrynsäure (0,005 %, 11 Minuten) bei Vorbehandlung mit Troxerutin (i.v.) und DHE (i.v.) sowie ohne Vorbehandlung (= Kontrolle)
Ausgangskontraktion vor Schädigung = 100 %
Kontraktilität geprüft mit 1×10^{-6} M ACh

3.1.3 Ergebnisse der Versuche am Colon der Ratte

Am durch Etacrynsäure geschädigten Colon der Ratte wurde die Wirkung von Troxerutin und von Troxerutin in Kombination mit DHE in den in Tabelle (9) aufgeführten Konzentrationen getestet (s. Abbildung (6) und (7)).

Eine hochsignifikante Schutzwirkung (1 % Irrtumswahrscheinlichkeit nach Student) läßt sich bei der Verwendung von Troxerutin 100 mg/kg (i.v.) in Kombination mit DHE 1 mg/kg (i.v.) erkennen. Die Kontraktionsfähigkeit war 5 Minuten nach Schädigung durch Etacrynsäure um ca. 45 % gegenüber dem Kontrollwert erhöht. 65 Minuten nach Schädigung durch Etacrynsäure ergab sich noch eine Verbesserung gegenüber dem Kontrollwert um ca. 20 %.

Bei Verwendung von Troxerutin 50 mg/kg (i.v.) in Kombination mit DHE 1 mg/kg (i.v.) zeigt sich dagegen eine Verstärkung der Kontraktionsfähigkeit von 5 % (5 Minuten nach Schädigung durch Etacrynsäure) auf 15 % (65 Minuten nach Schädigung durch Etacrynsäure), ohne daß sich das erzielte Ergebnis jedoch signifikant vom Kontrollwert unterschied.

Bei Verwendung von Troxerutin 25 mg/kg (i.v.) in Kombination mit DHE 1 mg/kg (i.v.) zeigte sich kein Nachlassen der Kontraktionsfähigkeit im Laufe der Versuchsdurchführung. Die erzielte Schutzwirkung unterschied sich jedoch nicht signifikant vom Kontrollwert.

Bei Verwendung von Troxerutin 50 mg/kg (i.v.) und bei Troxerutin 50 mg/kg (i.v.) in Kombination mit DHE 1×10^{-6} M im Organbad zeigte sich zu keinen Zeitpunkt ein Schutzwirkung von über 10 %.

Die t-Werte nach Student sind Tabelle (11) zu entnehmen.

Konzentration Troloxerutin	Konzentration DHE	Anzahl der Versuche		Zeit nach Schädigung		
				5 min	35 min	65 min
-	-	25	$\bar{x}$	43,20	46,93	49,23
			SE	6,12	8,18	8,99
50 mg/kg i.v.	-	14	$\bar{x}$	45,89	53,50	53,50
			SE	6,04	9,45	9,45
50 mg/kg i.v.	10^{-6} M im Bad	14	$\bar{x}$	48,69	54,83	54,83
			SE	11,60	12,78	12,78
25 mg/kg i.v.	1 mg/kg i.v.	8	$\bar{x}$	54,65	54,61	54,61
			SE	4,33	2,34	2,34
50 mg/kg i.v.	1 mg/kg i.v.	15	$\bar{x}$	48,46	61,71	61,71
			SE	5,70	8,99	8,99
100 mg/kg i.v.	1 mg/kg i.v.	8	$\bar{x}$	86,10	69,46	69,46
			SE	3,10	3,99	3,99

Tab. (9): Einfluß von Troloxerutin und DHE auf die Schädigung
 durch Etacrynsäure (0,005 %, Einwirkungszeit 12')
 Kontraktilität geprüft durch
 Acetylcholin (1×10^{-6} M)
 Ausgangskontraktion vor Schädigung = 100 %
 $\bar{x}$ = Mittelwerte in % der Ausgangskontraktion
 SE = Standardfehler
 Tier: Ratte Organ: Colon

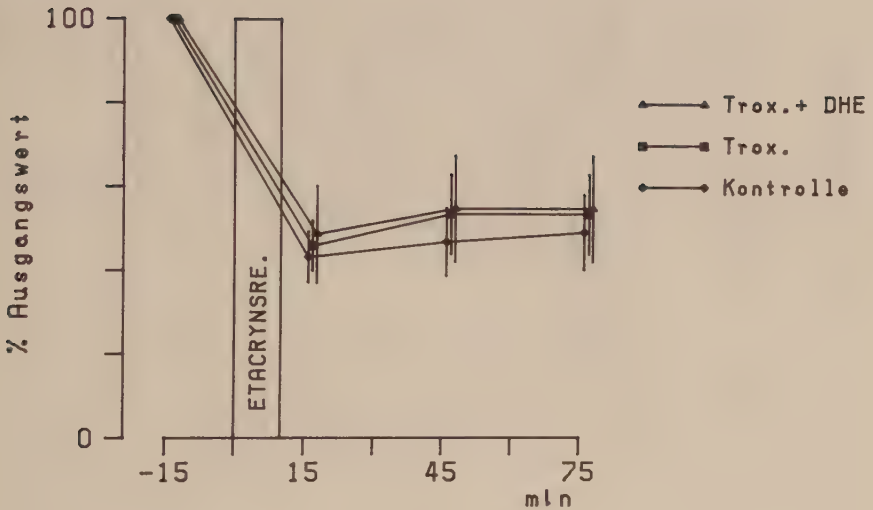


Abb. (6): Vergleich der Kontraktilität von isolierten Colonabschnitten der Ratte nach Schädigung durch Etacrynsäure (0,005 %, 12 Minuten) bei Vorbehandlung mit Troxerutin 50 mg/kg (i.v.) bzw. Troxerutin 50 mg/kg (i.v.) und DHE 10^{-6} M im Organbad sowie ohne Vorbehandlung (= Kontrolle)
Ausgangskontraktion vor Schädigung = 100 %
Kontraktilität geprüft mit 1×10^{-6} M ACh

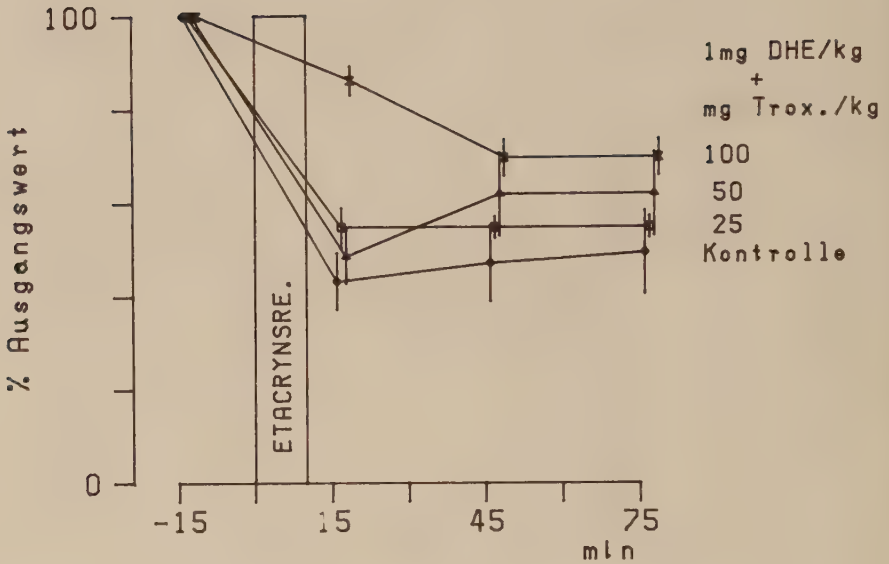


Abb. (7): Vergleich der Kontraktilität von isolierten Colonabschnitten der Ratte nach Schädigung durch Etacrynsäure (0,005 %, 12 Minuten) bei Vorbehandlung mit Troxerutin (i.v.) und DHE (i.v.) im Organbad sowie ohne Vorbehandlung (= Kontrolle)
Ausgangskontraktion vor Schädigung = 100 %
Kontraktilität geprüft mit 1×10^{-6} M ACh

3.1.4 Ergebnisse der Versuche an der Pfortader der Ratte

An der durch Etacrynsäure geschädigten Pfortader der Ratte wurde die Wirkung von Troxerutin und von Troxerutin in Kombination mit DHE in den in Tabelle (10) aufgeführten Konzentrationen getestet (s. Abbildungen (8) - (10)).

Bei Verwendung von Troxerutin 10 mg/kg (i.v.) in Kombination mit DHE in verschiedenen Konzentrationen im Organbad zeigte sich eine hochsignifikante Verminderung der Kontraktilität, die um so stärker ausfiel, je höher die verwendete DHE-Konzentration war.

Ebenso verminderte Troxerutin 10 mg/kg (i.v.) die Kontraktionsfähigkeit, wenn auch nicht signifikant.

Bei Verwendung von Troxerutin intravenös in verschiedenen Konzentrationen in Kombination mit DHE 1 mg/kg (i.v.) zeigte sich 5 Minuten nach Schädigung durch Etacrynsäure keine deutliche Schutzwirkung. Alle drei getesteten Konzentrationen lagen nur ca. 10 % über dem Kontrollwert. 65 Minuten nach Schädigung durch Etacrynsäure zeigte die mittlere Kombination von Troxerutin 50 mg/kg (i.v.) mit DHE 1 mg/kg (i.v.) die größte insgesamt erreichte Schutzwirkung von 45 % erhöhter Kontraktilität gegenüber dem Kontrollwert, während die beiden anderen Kombinationen ca. 25 % über dem Kontrollwert lagen. Auffallend war wie beim Ileum der Ratte das starke Abfallen des Grundtonus nach Schädigung durch Etacrynsäure. Die t-Werte nach Student sind Tabelle (11) zu entnehmen.

Konzentration Troloxerutin	Konzentration DHE	Anzahl der Versuche	Zeit nach Schädigung		
			5 min	35 min	65 min
-	-	7	$\bar{x}$ 89,14 SE 10,38	81,43 12,20	79,99 11,63
10 mg/kg i.v.	-	6	$\bar{x}$ 71,87 SE 12,66	68,77 11,02	68,77 11,02
10 mg/kg i.v.	10 ⁻⁶ M im Bad	2	$\bar{x}$ 31,65 SE 8,35	31,65 8,35	31,65 8,36
10 mg/kg i.v.	10 ⁻⁷ M im Bad	2	$\bar{x}$,43 SE 10,66	9,57 4,25	9,57 4,25
10 mg/kg i.v.	10 ⁻⁸ M im Bad	3	$\bar{x}$ 52,83 SE 11,65	52,83 11,65	52,83 11,65
25 mg/kg i.v.	1 mg/kg i.v.	3	$\bar{x}$ 100,10 SE 6,70	107,53 14,35	107,53 14,35
50 mg/kg i.v.	1 mg/kg i.v.	2	$\bar{x}$ 106,10 SE 18,90	129,10 33,40	129,10 33,40
100 mg/kg i.v.	1 mg/kg i.v.	3	$\bar{x}$ 98,33 SE 14,53	102,50 18,43	102,50 18,43

Tab. (10): Einfluß von Troloxerutin und DHE auf die Schädigung durch Etacrynsäure (0,01 %, Einwirkungszeit 10') Kontraktilität geprüft durch Noradrenalin (1×10^{-6} M) Ausgangskontraktion vor Schädigung = 100 % $\bar{x}$ = Mittelwerte in % der Ausgangskontraktion SE = Standardfehler Tier: Ratte Organ: Pfortader

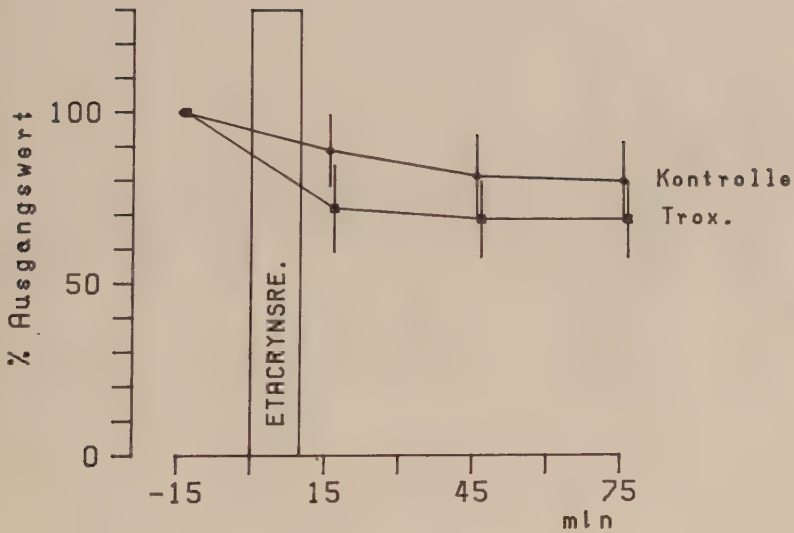


Abb. (8): Vergleich der Kontraktilität von isolierten Pfort-
aderabschnitten der Ratte nach Schädigung durch
Etacrynsäure (0,01 %, 10 Minuten) bei
Vorbehandlung mit Troxerutin 10 mg/kg (i.v.)
sowie ohne Vorbehandlung (= Kontrolle)
Ausgangskontraktion vor Schädigung = 100 %
Kontraktilität geprüft mit 1×10^{-6} M NA

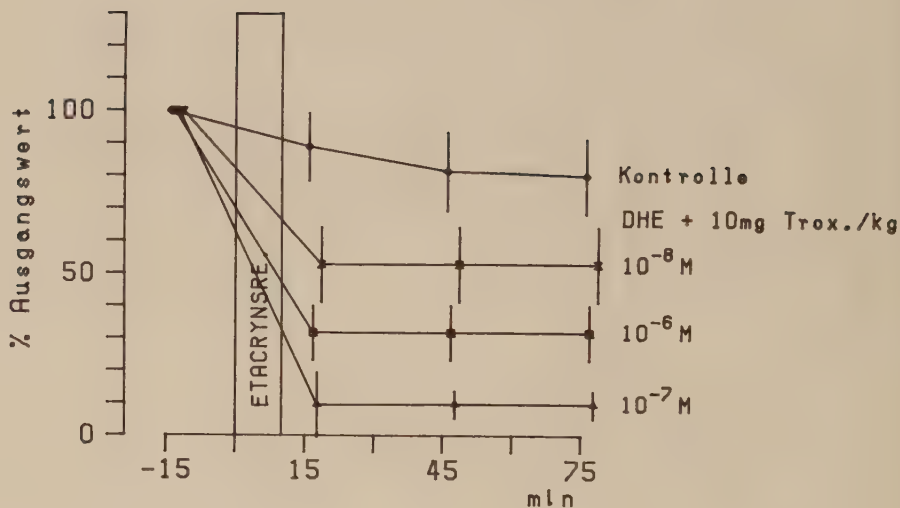


Abb. (9): Vergleich der Kontraktilität von isolierten Pfort-
 aderabschnitten der Ratte nach Schädigung durch
 Etacrynsäure (0,01 %, 10 Minuten) bei
 Vorbehandlung mit Troxerutin (i.v.) und DHE im
 Organbad sowie ohne Vorbehandlung (= Kontrolle)
 Ausgangskontraktion vor Schädigung = 100 %
 Kontraktilität geprüft mit 1×10^{-6} M NA

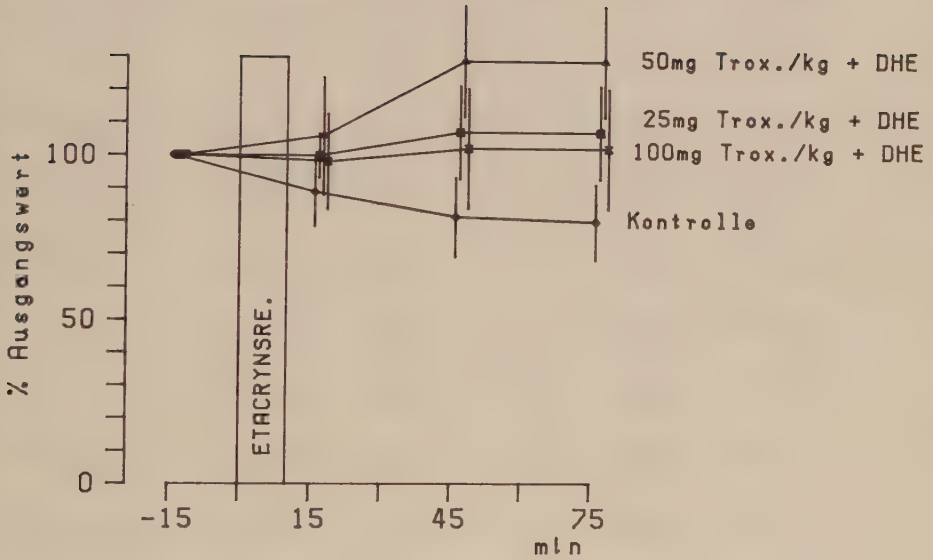


Abb. (10): Vergleich der Kontraktilität von isolierten Pfort-
aderabschnitten der Ratte nach Schädigung durch
Etacrynsäure (0,01 %, 10 Minuten) bei
Vorbehandlung mit Troxerutin (i.v.) und DHE 1 mg/kg
(i.v.) sowie ohne Vorbehandlung (= Kontrolle)
Ausgangskontraktion vor Schädigung = 100 %
Kontraktilität geprüft mit 1×10^{-6} M NA

3.1.5 Zusammenfassung der Versuche am Ileum und Colon sowie an der Pfortader der Ratte (tabellarisch)

Konzentration Troxerutin	Konzentration DHE	Werte nach Student-t-Test					
		Ileum			Colon		
		5 min	35 min	65 min	5 min	35 min	65 min
10 mg/kg i. v.	-	3,41	4,02 (2,20)	4,21	-	-	-
50 mg/kg i. v.	-	2,41	2,31 (2,78)	2,40	0,29	0,50 (2,26)	0,31
50 mg/kg i. v.	10 ⁻⁶ M im Bad	-0,24	-0,73 (2,26)	-0,83	0,47	0,55 (2,26)	0,37
10 mg/kg i. v.	10 ⁻⁶ M im Bad	1,15	1,65 (2,31)	1,73	-	-	-
10 mg/kg i. v.	10 ⁻⁷ M im Bad	1,34	1,45 (2,31)	1,46	-	-	-
10 mg/kg i. v.	10 ⁻⁸ M im Bad	0,89	1,76 (2,31)	1,83	-	-	-
25 mg/kg i. v.	1 mg/kg i. v.	1,37	1,84 (2,36)	2,05	0,29	0,50 (2,26)	0,31
50 mg/kg i. v.	1 mg/kg i. v.	0,34	0,45 (2,16)	0,41	0,60	1,20 (2,23)	1,11
100 mg/kg i. v.	1 mg/kg i. v.	0,53	0,31 (2,36)	0,29	3,55	1,39 (2,36)	1,14

Tab. (11): Die nach dem Student-t-Test zum Vergleich zweier Mittelwerte berechneten Werte für die Verumversuche. In Klammern sind jeweils die Signifikanzschwellen nach Student angegeben.
(Fortsetzung der Tabelle auf Seite 41)

Konzentration Troloxerutin	Konzentration DHE	Werte nach Student-t-Test Pfortader		
		5 min	35 min	65 min
10 mg/kg i.v.	-	-1,07	-0,76 (2,20)	-0,69
50 mg/kg i.v.	-	-	-	-
50 mg/kg i.v.	10 ⁻⁶ M im Bad	-	-	-
10 mg/kg i.v.	10 ⁻⁶ M im Bad	-2,78	-2,05 (2,36)	-2,05
10 mg/kg i.v.	10 ⁻⁷ M im Bad	-4,85	-2,99 (2,36)	-3,07
10 mg/kg i.v.	10 ⁻⁸ M im Bad	-2,04	-1,45 (2,30)	-1,38
25 mg/kg i.v.	1 mg/kg i.v.	0,65	1,24 (2,30)	1,36
50 mg/kg i.v.	1 mg/kg i.v.	0,77	1,71 (2,36)	1,82
100 mg/kg i.v.	1 mg/kg i.v.	0,95	0,49 (2,30)	1,05

Fortsetzung

Tab. (11): Die nach dem Student-t-Test zum Vergleich zweier Mittelwerte berechneten Werte für die Verumversuche. In Klammern sind jeweils die Signifikanzschwellen nach Student angegeben.

Troxaerutin	DHE	Ileum	Colon	Pfortader
		$\bar{x}_v - \bar{x}_k$	$\bar{x}_v - \bar{x}_k$	$\bar{x}_v - \bar{x}_k$
10 mg/kg i. v.	-	43 %	-	- 13 %
50 mg/kg i. v.	-	31 %	7 %	-
50 mg/kg i. v.	10 ⁻⁶ M im Bad	-11 %	8 %	-
10 mg/kg i. v.	10 ⁻⁶ M im Bad	22 %	-	- 50 %
10 mg/kg i. v.	10 ⁻⁷ M im Bad	35 %	-	- 71 %
10 mg/kg i. v.	10 ⁻⁸ M im Bad	27 %	-	- 29 %
25 mg/kg i. v.	1 mg/kg i. v.	25 %	8 %	26 %
50 mg/kg i. v.	1 mg/kg i. v.	8 %	15 %	48 %
100 mg/kg i. v.	1 mg/kg i. v.	4 %	23 %	21 %

Tab. (12): Vergleich der Wirkung von Troxaerutin und Troxaerutin in Kombination mit DHE an den untersuchten Organen der Ratte (65 Minuten nach Schädigung durch Etacrynsäure) mit
 $\bar{x}_v$ = durchschnittliche Kontraktilität des Verumversuches
 $\bar{x}_k$ = durchschnittliche Kontraktilität des Kontrollversuches
 (alle Werte in % der Ausgangskontraktion)

3.2 Vergleich der Ergebnisse am Ileum von Ratte und Meerschweinchen (Tiervergleich)

Am durch Etacrynsäure geschädigten Ileum des Meerschweinchens wurde Troxerutin 50 mg/kg (i.v.) und Troxerutin 50 mg/kg (i.v.) in Kombination mit DHE 10^{-6} M im Organbad getestet. Die Ergebnisse sind Tabelle (13) aufgeführt (s. Abbildung (11)).

Konzentration Troxerutin	Konzentration DHE	Anzahl der Versuche		Zeit nach Schädigung		
				5 min	35 min	65 min
-	-	6	$\bar{x}$	40,63	43,71	37,49
			SE	12,49	14,38	6,24
50 mg/kg i.v.	-	9	$\bar{x}$	22,38	23,58	22,58
			SE	6,10	6,54	7,25
50 mg/kg i.v.	10^{-6} M im Bad	9	$\bar{x}$	19,73	22,33	21,33
			SE	4,03	3,72	5,05

Tabelle (13): Einfluß von Troxerutin und Troxerutin in Kombination mit DHE auf die Schädigung durch Etacrynsäure (0,005 %, Einwirkungszeit 10') Kontraktilität geprüft durch Acetylcholin 10^{-6} M Ausgangskontraktion vor Schädigung = 100 %
SE = Standardfehler
 $\bar{x}$ = Mittelwerte in % der Ausgangskontraktion
Tier: Meerschweinchen Organ: Ileum

Beide Konzentrationen verminderten die Kontraktilität der untersuchten Segmente gegenüber dem Kontrollwert um ca. 20 %.

Beim Ileum der Ratte konnte durch Troxerutin 50 mg/kg (i.v.) eine deutliche, wenn auch nicht signifikante Schutzwirkung gegenüber der Etacrynsäure erreicht werden.

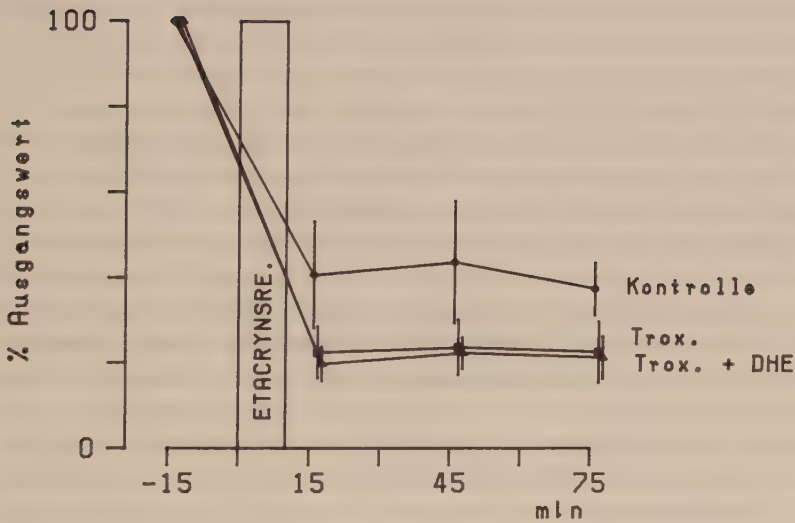


Abb. (11): Vergleich der Kontraktilität von isolierten Ileumabschnitten des Meerschweinchens nach Schädigung durch Etacrynsäure (0,005 %, 10 Minuten) bei Vorbehandlung mit Troxerutin 50 mg/kg (i.v.) bzw. Troxerutin 50 mg/kg (i.v.) und DHE 10^{-6} M (im Organbad) sowie ohne Vorbehandlung (= Kontrolle) Ausgangskontraktion vor Schädigung = 100 % Kontraktilität geprüft mit 1×10^{-6} M ACh

4. Diskussion

Die protektive Wirkung von O-(β -Hydroxyäthyl)-rutosiden (HR) gilt als gesichert, wobei man einen allgemeinen "kapillarabdichtenden" Effekt vermutet.

Zahlreiche Arbeiten ergaben, daß HR eine allgemeine, unspezifische Schutzwirkung gegenüber verschiedenen Noxen (z. B. Etacrynsäure oder Polidocanol) zeigt. Fritz-Niggli (5) deutet den Schutzeffekt der Flavonoide so, daß sie membrangebundene Stoffwechselvorgänge fördern.

Eichler (3) wies an der durch Etacrynsäure geschädigten Pfortader der Ratte eine protektive Wirkung bei Applikation von HR im Organbad nach. Desgleichen ergaben Untersuchungen an der ebenfalls durch Etacrynsäure geschädigten Pfortader der Ratte, daß bei intraperitonealer Applikation von HR eine signifikante Hemmung der Schädigung erreicht wurde (Gronenberg (7)).

Felix (4) fand, daß O-(β -Hydroxyäthyl)-Rutoside die Ödembildung durch Äthoxysklerol und Thiopental am Hinterlauf der Katze hemmen.

Gabor und Blazso (6) fanden an durch Carrageenin und Prostaglandin E₁ hervorgerufenen Ödemen an der Rattenpfote, daß eine 4-tägige Behandlung mit HR das Ödem signifikant herabsetzte.

Nachdem die protektive Wirkung von HR an Gefäßen als gesichert galt, wurde die Wirkung von HR auch an der glatten Muskulatur des Darmes untersucht.

Leidig (9) fand am durch Etacrynsäure geschädigten Ileum des Meerschweinchens, daß HR das Ausmaß der Schädigung verringert.

Organvergleich (Ratte)

Trihydroxyäthylrutosid (Freiname Troxerutin) als wesentlicher Bestandteil des HR-Gemisches von mono-, di-, tri- und tetrahydroxyäthylierten Rutosiden zeigt ähnliche Wirkung wie HR und verfügt über gute Wasserlöslichkeit.

Eine eindeutige Schutzwirkung wurde in vorliegender Arbeit am Ileum der Ratte bei intravenöser Applikation von Troxerutin gefunden. Dabei zeigte sich bei niedriger Konzentration von Troxerutin (10 mg/kg i.v.) eine signifikante und dabei höhere Schutzwirkung als bei der höheren Konzentration von Troxerutin (50 mg/kg i.v.). Bei Colon und Pfortader der Ratte konnte eine solche Schutzwirkung von Troxerutin nicht gefunden werden. Da der Standardfehler der Ergebnisse der Versuche am Colon und Pfortader vergleichbar bzw. geringer als bei den Ergebnissen der Versuche am Ileum ist, erscheint eine Verfälschung der Ergebnisse aufgrund zu geringer Anzahl der Versuche als unwahrscheinlich. Es bleibt somit offen, ob an Colon und Pfortader der Ratte eine Schutzwirkung eventuell bei anderen Konzentrationen von Troxerutin erreicht werden kann.

Wie die Ergebnisse zeigen, ist die Wirkung von Troxerutin bzw. Troxerutin in Kombination mit DHE abhängig vom Organ (Ileum, Colon bzw. Pfortader), Tier (Ratte bzw. Meerschweinchen), der Art der Applikation (intravenös bzw. im Organbad) sowie der jeweiligen Konzentration.

Troxerutin (i.v.) und DHE (im Organbad)

Versuche an der hinteren Extremität der Katze (4) zeigten, daß DHE die ödemprotektive Wirkung von Troxerutin beeinträchtigt. Diese Ergebnisse konnten in vorliegender Arbeit an der Pfortader der Ratte mit DHE im Organbad bestätigt werden. Bei einer Konzentration von Troxerutin von 10 mg/kg (i.v.) und einer Konzentration von DHE von 10^{-6} , 10^{-7} und 10^{-8} M im Organbad trat 5 Minuten nach Schädigung durch Etacrynsäure eine signifikante Verstärkung der Schädigung auf. Auffallend war hierbei der starke Abfall des Ruhewertes (ca. 10 % des Ausgangsruhwertes).

Die Ergebnisse am Colon der Ratte bei kombinierter Anwendung von Troxerutin 50 mg/kg (i.v.) und DHE 10^{-6} M (im Organbad) sind praktisch identisch mit den Ergebnissen bei alleiniger Applikation von Troxerutin 50 mg/kg (i.v.), d. h. es konnte gegenüber den Kontrollwerten keine Schutzwirkung gefunden werden.

Am Ileum der Ratte ergab sich bei Applikation von Troxerutin 10 mg bzw. 50 mg/kg (i.v.) in Kombination mit DHE 10^{-6} M bzw. 10^{-8} M (im Organbad), daß die protektive Wirkung des Troxerutin durch das DHE deutlich verringert wird.

Troxeutin (i.v.) und DHE (i.v.)

Bei Kombination von Troxeutin 50 bzw. 100 mg/kg (i.v.) mit DHE 1 mg/kg (i.v.) ergab sich beim Ileum der Ratte keine Änderung im Vergleich zu den Kontrollversuchen. Bei einer Troxeutinkonzentration von 25 mg/kg (i.v.) erhöhte sich die Kontraktilität im Vergleich zu den Kontrollversuchen um ca. 20 %. (Bei der relativ geringen Anzahl der durchgeführten Versuche und dem relativ hohen Standardfehler besitzen diese Ergebnisse keine relevante Aussagekraft.)

Am Colon der Ratte zeigte sich bei einer Troxeutinkonzentration von 25 bzw. 50 mg/kg (i.v.) kein Unterschied zu den Kontrollversuchen. Lediglich in einer Dosis von 100 mg Troxeutin (i.v.) ergab sich eine Erhöhung der Kontraktilität um ca. 20 %, die jedoch nicht signifikant war.

An der Pfortader ergab sich bei Troxeutinkonzentrationen von 25, 50 und 100 mg/kg (i.v.) und DHE 1 mg/kg (i.v.) eine um ca. 10 % erhöhte Kontraktilität gegenüber der Kontrolle, jedoch bei Standardfehlern von teilweise über 30 %.

Tiervergleich

Bingemann (2) fand am durch Polidocanol geschädigten Meerschweinchenileum, daß bei Verwendung von Troxerutin in verschiedenen Konzentrationen im Organbad eine deutliche protektive Wirkung von Troxerutin gegeben war, die durch Zugabe von DHE ins Organbad noch gesteigert wurde.

Schuster (10) fand in seinen Untersuchungen am isolierten Meerschweinchenileum, daß DHE hemmend auf durch Acetylcholin hervorgerufene Kontraktionen wirkt.

In vorliegender Arbeit konnte mit Troxerutin in einer Konzentration von 50 mg/kg (i.v.) am Meerschweinchenileum hingegen kein Schutzeffekt erzielt werden. Ebenso führte auch die kombinierte Anwendung von Troxerutin 50 mg/kg (i.v.) und DHE 10^{-6} M im Organbad zu keiner Schutzwirkung.

Bei der Ratte konnte bei Verwendung von Troxerutin 50 mg/kg (i.v.) allein eine deutliche, jedoch nicht signifikante Schutzwirkung gegenüber den Kontrollversuchen erreicht werden, während sich bei dieser Konzentration von Troxerutin in Kombination mit DHE 10^{-6} M im Organbad wie am Ileum des Meerschweinchens keine Schutzwirkung zeigte.

Beim Vergleich der Wirkung von Troxerutin 50 mg/kg (i.v.) am Ileum des Meerschweinchens mit der bei der Ratte ergeben sich deutliche Unterschiede. Während beim Meerschweinchenileum eine deutliche Verminderung der Kontraktilität um ca. 20 % verursacht wird, bewirkt die gleiche Konzentration von Troxerutin am Ileum der Ratte eine Erhöhung der Kontraktilität um durchschnittlich 30 %.

Die Ursache für das unterschiedliche Verhalten der gleichen Organe verschiedener Tiere konnte im Rahmen dieser Arbeit nicht geklärt werden.

Zudem können die Untersuchungen von Bingemann (2) nicht direkt mit denen vorliegender Arbeit verglichen werden, da die Schädigung durch Polidocanol im Gegensatz zu der durch Etacrynsäure reversibel ist. Bei der irreversiblen Schädigung durch Etacrynsäure wird vermutet, daß nicht nur die membrangebundenen (Membran-ATP-ase) und intrazellulär gelegenen Enzyme (Glykolyse) gehemmt werden, sondern daß auch eine Störung des Zellgefüges vorliegt. Eine Reaktion mit Sulfhydrylgruppen könnte dabei eine Rolle spielen (1).

5. ZUSAMMENFASSUNG

Untersucht wurde die hypothetische Schutzwirkung von Troxerutin als Vertreter der O-(β -Hydroxyäthyl)-rutoside einzeln und in Kombination mit Dihydroergotamin bei verschiedenen Applikationsformen.

Dabei wurden vorbehandelte und unvorbehandelte Abschnitte von Ileum, Colon und Pfortader der Ratte sowie vom Meerschweinchenileum nach Schädigung durch Etacrynsäure auf ihre Kontraktilität in vitro geprüft.

Das Troxerutin wurde in verschiedenen Konzentrationen jeweils 1 Stunde vor Exitus der Tiere i.v. verabreicht, entweder einzeln oder in Kombination mit DHE, das ebenfalls in verschiedenen Konzentrationen entweder ins Organbad 10 Minuten vor Zugabe der schädigenden Substanz oder gemeinsam mit Troxerutin 1 Stunde vor Exitus der Tiere i.v. angewandt wurde.

Beim Organvergleich der Ratte zeigte sich, daß keine der getesteten hypothetischen Schutzsubstanzen bei gleicher Konzentration die gleiche Wirkung auf die untersuchten isolierten Organe hatte.

Am Ileum der Ratte zeigte Troxerutin in einer Konzentration von 10 mg/kg i.v. eine signifikante Schutzwirkung gegenüber der Schädigung durch Etacrynsäure, wobei die gleiche Konzentration bei der Pfortader zu einer Verstärkung der Schädigung um ca. 13 % (in Prozent der Ausgangskontraktion) führte.

Bei Verwendung von Troxerutin 10 mg/kg i.v. in Kombination mit DHE 10^{-6} M im Organbad ergibt sich für das Ileum der Ratte eine mittlere Hemmung der Schädigung von über 20 %.

Die gleiche Konzentration führt bei der Pfortader zu einer deutlichen Verstärkung der Schädigung durch Etacrynsäure. Lediglich bei Verwendung von Troxerutin 25 mg/kg i.v. in Kombination mit DHE 1 mg/kg i.v. zeigen Ileum und Pfortader eine mittlere Hemmung der Schädigung durch Etacrynsäure von ca. 25 % .

Beim Ileum führt eine Erhöhung der Troxerutinkonzentration auf 50 mg/kg i.v. jedoch im Gegensatz zur Pfortader zu einer verringerten Hemmung der Schädigung.

Am Colon der Ratte zeigte nur Troxerutin 100 mg/kg i.v. eine deutliche Hemmung der Schädigung durch Etacrynsäure. Alle anderen Konzentrationen von diesen Substanzen zeigten keine deutliche Änderung gegenüber den Kontrollversuchen.

Beim Tierversgleich zeigte sich, daß auf Troxerutin 50 mg/kg i.v. in Kombination mit DHE 10^{-6} im Organbad sowohl das Meerschweinchenileum als auch das Ileum der Ratte mit einer Verstärkung der Schädigung durch Etacrynsäure reagierten.

Troxerutin 50 mg/kg i.v. führte am Ileum der Ratte zu einer Hemmung der Schädigung um durchschnittlich 31 %, während die gleiche Konzentration am Ileum des Meerschweinchens zu einer Verstärkung der Schädigung um ca. 20 % führte.

6. LITERATURVERZEICHNIS

- (1) BACKHAUS, H.-J.: Zur Wirkung von Aescin und Benzaron auf die durch Etacrynsäure und Polidocanol geschädigten isolierten Pfortadern und Aorten der Ratte.
München: Diss. med. (1981)

- (2) BINGEMANN, E.: Einfluss von Dihydroergotamin auf die Schutzwirkung von Troxerutin am durch Polidocanol geschädigten isolierten Meerschweinchenileum
München: Diss. med. (1982)

- (3) EICHLER, P.: Zur Wirkung von HR auf die durch Polidocanol und Etacrynsäure geschädigten isolierten Pfortadern und Aorten der Ratte.
München: Diss. med. (1981)

- (4) FELIX, W.: Zur Wirkung von O-(β -Hydroxyethyl)-rutosiden auf die Ödembildung durch Ethoxysklerol und Thiopental am Hinterlauf der Katze.
In: Voelter, W. und Jung, G. (Hrsg.), a.a.O.
O-(β -Hydroxyäthyl)-rutoside: Experimentelle und klinische Ergebnisse, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1978
(S. 93 - 102)

- (5) FRITZ-NIGGLI, H.: Rutoside und strahleninduzierte Tumorregression: Differenzierte Reaktionen maligner und gesunder Zellen.
In: Voelter, W. und Jung, G. (Hrsg.), a.a.O.
O-(β -Hydroxyäthyl)-rutoside: Experimentelle und klinische Ergebnisse, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1978
(S. 169 - 180)
- (6) GABOR, M., BLAZSO, G.: Effekt von Rutosiden auf das Rattenpfoten-ödem
In: Voelter, W. und Jung, G. (Hrsg.), a.a.O.
O-(β -Hydroxyäthyl)-rutoside: Experimentelle und klinische Ergebnisse, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1978
(S. 73 - 78)
- (7) GRONENBERG, W.: Protektive Wirkungen von acetylierten und nichtacetylierten Hydroxyäthylrutosiden gegenüber Etacrynsäure an der Pfortader der Ratte bei verschiedenen Applikationen.
München: Diss. med. (1982)

- (8) HAMMERSEN, F.: Zur Ultrastruktur experimenteller Ödeme und deren Beeinflussung durch O-(β -Hydroxyäthyl)-rutoside.
In: Voelter, W. und Jung, G. (Hrsg.), a.a.O.
O-(β -Hydroxyäthyl)-rutoside: Experimentelle und klinische Ergebnisse, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1978
(S. 103 - 120)
- (9) . LEIDIG, M.: Protektive und kurative Wirkung von O-(β -Hydroxyäthyl)-Rutosiden auf das isolierte Meerschweinchenileum bei Schädigung durch Etacrynsäure.
München: Diss. med. (1983)
- (10) SCHUSTER, J.: Spasmolytische Wirkung von Noradrenalin, Dihydroergotamin, Isoprenalin, Pindolol und Dopamin am isolierten Meerschweinchenileum.
München: Diss. med. (1978)

LEBENS LAUF

Peter Borovec

08.02.1942	geboren als Sohn des Arztes MUDr. Ladislav Borovec und seiner Ehefrau Enna, geb. Königsberger, in Mährisch-Ostau, CSSR
1948 - 1959	Schulbesuch in Roznov p. R., CSSR
04.06.1959	Abitur
1959 - 1960	Berufstätigkeit im Elektrobetrieb Tesla, Roznov p. R.
1960 - 1963	Studium an der TH für Maschinenbau in Liberec (Reichenberg), CSSR
1963 - 1965	Militärdienst in Janovice, CSSR
1965 - 1966	Berufstätigkeit im Elektrobetrieb Tesla, Roznov p. R. im technischen Dienst
30.09.1966	Übersiedlung in die BR Deutschland
1966 - 1968	Berufstätigkeit als technischer Zeichner bei der Siemens AG, München
1968 - 1970	Ausbildung zum Übersetzer am Sprachen- und Dolmetscher-Institut, München
1970 - 1978	Berufstätigkeit als Übersetzer im Patentanwaltsbüro
WS 1978	Aufnahme des Studiums der Zahnheilkunde an der Ludwig Maximilians-Universität, München
19.12.1984	Zahnärztliche Prüfung
02.01.1985	Bestallung als Zahnarzt durch das Bayerische Staatsministerium des Innern

